

Kémiai szerkezet és mikrobiológiai aktivitás összefüggésének vizsgálata szteroidglikozidokkal

Berek Imre

JATE, Növényélettani és Mikrobiológiai Intézet

Dolgozatomban hat szteroidglikozidot hasonlítottam össze a kémiai szerkezet és mikrobiológiai aktivitás szempontjából. Mivel az irodalomból ismert /1,2/, hogy ezen vegyületek cukorkomponenseinek összetétele befolyásolja mikrobiológiai aktivitásukat, a vegyületek kiválasztásánál figyelemmel voltam arra, hogy cukorkomponenseik azonosak legyenek.

Vizsgáltam az F gyűrűben levő N atom sztérikus helyzetének hatását a tomatin és a szoladulcidin-tetraozid, a β -szolamarin és a szolamargin mikrobiológiai aktivitására. A szolamargint Δ^5 helyzetben telítetlen /össze-mérten Δ^5 helyzetben telített /szolamargin-H/ megfelelőjével. Tanulmányoztam a dioscin /F gyűrűben O atom van N helyett/ és a szolamargin mikrobiológiai aktivitása közötti kapcsolatot.

Az összehasonlító vizsgálathoz új módszert dolgoztam ki, amely gyors, és kis anyagmennyiségek hatásösszeméréséhez alkalmas. Ugyanis az általában használatos módszereket: diffúziós /lyuk, korong/, gravimetriás, ill. turbiditáson alapuló módszereket nem találtam megfelelőnek, hasonlóan a Wolters idevonatkozó munkáiban /3,4,5/ leirt u.n. "csatorna teszt"-et sem, amellyel spiroszolanolglykozidok gombaellenes hatását vizsgálta.

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Tomatin: $C_{50}H_{83}O_{21}N$ Ms.: 1034,222 /6,7/.
Négy cukormolekulát /1^m xyloz, 2^m glukoz, 1^m galaktoz/ tartalmazó alkaloida. Az F gyűrű térállása β helyzetű. Solanum lycopersicumból állítottam elő /8/.

Szoadulcidin-tetraozid: $C_{50}H_{83}O_{21}N$ Ms.: 1034,222 /9,10/.

Cukorkomponensei megegyeznek a tomatinéval. Az F gyűrű térállása α helyzetű. A Solanum dulcamarából állítottam elő /8/.

Szolamargin: $C_{45}H_{75}O_{15}N$ Ms.: 868,042 /11,12/
Három cukormolekulát /2 ramnoz, 1^m glukoz/ tartalmaz és Δ^5 helyzetben telítetlen. Az F gyűrű térállása α . A Tiszavasvári Alkaloidagyárból származik.

β -szolamarin: $C_{45}H_{73}O_{15}N$ Ms.: 868,042 /13/.
A szolamarginnal megegyező vegyület, az F gyűrű térállása β .
A vegyületet prof. Schreibertől kaptam /NDK/.

Szolamargin-H:
 Δ^5 helyzetben telített szolamargin. A JATE Szerves Kémiai Intézetében állították elő.

Dioscin: $C_{45}H_{72}O_{16}$ Ms.: 867,034 /14/
Szaponin típusú, α helyzetű F gyűrűje O-t tartalmaz N helyett. Cukorkomponensei megegyeznek a szolamarginéval. A Gyógyszeripari Kutatóintézetből kaptam.

Glukózus Sabouraud-f. táptalaj: 40 g glukóz, 10 g pepton, 20 g agar, 1000 ml víz /pH 7, Na_2CO_3 -al/.

Tesztmikroorganizmusok:

Hansenula anomala, Candida albicans CBS-562, Actinomucor repens 215, Syncephalastrum racemosum.

Az összehasonlító vizsgálati eljárás:

Petricészék helyett a Takátsy-f. szerológiai mikrotitráló lapot használtam /128 x 12 x 10 mm/, 8 sorban, soronként 12 db. mélyedést tartalmaz. A mélyedések felül 7 mm, alul 5 mm átmérőjűek, 0,2 ml folyadék befogadására alkalmasak. Az egyes mélyedésekbe mértem a hatóanyag táptalajhígításos sorozatait, majd ráhelyeztem a mycelium korongot, ill. a spóra v. élesztő sejt-szuszenziót.

Mycelium korong: a fonalgomba fiatal /16 órás/ előkultúrájából 2 mm átmérőjű korongokat lyukasztottam és ezt helyeztem a táptalaj felületére.

Spóra ill. élesztősejt szuszpenzió: egy kacsnyi térfogat 600 sejtet ill. spórát tartalmazott.

A vegyületeket 50 %-os etanolban oldottam és 11 lépésű 2/3-os hígítási sorozatot készítettem /100 µg/ml táptalaj a törzsoldat úgy, hogy 1,5 %-nál több etanolt ne tartalmazzon a táptalaj/. A kísérleteket 8 paralel véggeztem, 30°C-on inkubáltam 24 óráig.

EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

Az értékelésnél az egyes minimális gátló koncentrációk középértékét vettem és kiszámoltam a szórást a következőképpen:

$$s = \frac{\sum (x - x_i)^2}{n - 1}$$

x = középérték
 x_i = középtól való eltérés
n = ismétlések száma
n-1 = szabadsági fok

A következő táblázat szemlélteti a Sabouraud táptalajon 24 órás eredményeket mycelium-kerong teszttel:

Anyagok	minimális gátló koncentráció /µg/ml	
	Actinomucor repens	Syncephalastrum racemosum
tomatin	14,7 ± 3,94	66
Szoadulcidin tetraozid	18,02 ± 6,00	66
β-sz.margin	83 ± 10,33	> 100
sz.margin	17,1 ± 8,72	44
sz.margin-H	45,4 ± 13,95	100
dioscin	29,4 ± 00	> 100

Sabouraud táptalajon 24 órás eredmények konidium ill.
élesztősejttel:

Anyagok	Minimális gátló koncentráció ug/ml			
	Actinom.rep.	Synceph.rac.	Candida alb.	Hansenula an.
tomatin	3,05 \pm 0,725	4,2 \pm 0,320	16,45 \pm 2,99	4,75 \pm 0,279
sz.d.tetraozid	2,71 \pm 1,27	3,7	16,45 \pm 2,99	4,2 \pm 0,320
sz.margin	13	10,85 \pm 0,714	33,5 \pm 5,65	13
-sz.margin	16,35 \pm 2,99	16,35 \pm 2,99	100	13
sz.margin H	26,97 \pm 7,56	36,7 \pm 6,51	100	36,7 \pm 5,51
dioscin	44	100	100	2,7 \pm 0,2897

Az eredményekből megállapítható:

1./ Az N atom szterikus helyzete nem döntő a molekula mikrobiológiai aktivitása szempontjából. Az antifungális hatás mértéke hasonló a tomatinnál a szoladulcidin-tetraozidéhoz, a β -szolamarinnál hasonló a szolamarginéhoz /ez utóbbi valamivel nagyobb hatásnak látszik./

2./ Δ^5 helyzetben a kettőskötés megszüntetése /szolamargin-H/ csökkenti a mikrobiológiai aktivitást.

3./ A dioscin antifungális aktivitása a Hansenula anomala esetében igen nagy /15,16/, más gombák esetében mérsékeltebb. Az O jelenléte az F gyűrűben befolyásolja a vegyület aktivitását.

4./ Jó összefüggés állapítható meg a vegyületek mikrobiológiai aktivitása és az irodalomban ismeretes komplexképző tulajdonsága között /17/.

I r o d a l o m :

- /1/ Ferenczy, L. and Kevei, F.: Symp. on Mechanisms of Action of Fungicides, Acad. Verl.: Berlin, 1967. p.59.
- /2/ Ferenczy, L. and Kevei, F.: Acta Microbiol. Acad.Sci. Hung., 14: 127, 1967.
- /3/ Wolters, B.: Planta Med. 11: 183, 1963.
- /4/ Wolters, B.: Arch. Pharm. 298: 748, 1964.
- /5/ Wolters, B.: Planta Med. 14.: 392, 1966.
- /6/ Kuhn, R. and Löw, I.: Ber. 81: 552, 1948.
- /7/ Kuhn, R. and Löw, I. and Gauchem, A.: Ber. 83: 448, 1950.
- /8/ Berek, I.: A szteroidglikozidok újabb előállítási lehetőségei. Évvégi pályamunka 14, 1968.
- /9/ Alkemeyer, M. and Sander, H.: Naturwiss. 46: 207, 1959.
- /10/ Sander, H. Alkemeyer, M. and Hänsel, R.: Arch. Pharm. 295: 6, 1962.
- /11/ Briggs, L.H. Brooker, E.G. Harvey, W.E. and Odell, A.L.: J.Chem. Soc. 3587, 1952.
- /12/ Kuhn, R. Löw, I and Trischmann, H.: Ber. 88: 289, 1955.
- /13/ Boll, P.M.: Acta Chem. Scand. 16: 1819, 1962.
- /14/ Kawasaki, T. and Yamauchi, T.: Chem. Phar. Bull. Japan 10: 703, 1962.
- /15/ Imai, S. Murata, F. Fujioka, S. Murata, E. Goto, M.: Annual Report of the Takeda Research Laboratories 26: 66, 1967.
- /16/ Imai, S. Fujioka, S. Murata, E. Goto, M. Kawasaki, T. Yamauchi, T.: Annual Report of the Takeda Research Laboratories 26: 76, 1967.
- /17/ Ferenczy, L. Kevei, F. Berek, I. and Téren, J.: Some New Data on the Antifungal Effect of Steroid Glycosides. II. Internationales Symposium Wirkungsmechanismen von Fungiciden Antibiotika und Cytostatika. Reinhardtbrunn 1969. /in press/.